

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

Galectin-3 腫瘤標靶造影藥物之先期研究(2/2)

Preliminary study on development of radiopharmaceutical for
imaging oncological galectin-3 (2/2)

計畫編號：1012001INER059

受委託機關(構)：長庚大學

計畫主持人：魏孝萍

聯絡電話：(03)-2118800 轉 5388

E-mail address：spwey@mail.cgu.edu.tw

核研所聯絡人員：廖美秀

報告日期：101 年 10 月 22 日

目 錄

目 錄.....	i
中文摘要.....	1
英文摘要.....	2
壹、計畫緣起與目的.....	3
貳、研究方法與過程.....	7
一、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物.....	7
二、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物放射化學純度分 析.....	7
三、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物安定性試驗.....	8
四、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物細胞結合試驗..	9
五、接種 MDA-MB-435S人類乳癌細胞之 荷瘤 SCID小鼠 動物模 式.....	10
六、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物生物體分布實驗	10
七、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物動物PET造影實 驗.....	11
參、主要發現與結論.....	12
一、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物.....	12
二、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物安定性試驗.....	12
三、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物細胞結合試驗	13
四、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物生物體分布實驗	12
五、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物動物PET造影 .	15
肆、參考文獻.....	17

中文摘要

Galectin-3是半乳糖苷結合蛋白質家族的一員，能選擇性地與細胞表面的碳水化合物特異性結合，此與細胞的附著、腫瘤的入侵與轉移有關。已知 galectin-3會過度表現在許多腫瘤組織，例如乳癌與攝護腺癌，與腫瘤細胞的增長與轉移關係密切。根據這些事實，以放射性核種標幟會特異性結合 galectin-3 的分子可以作為非侵犯性造影檢查galectin-3過度表現的腫瘤，也可以進一步針對galectin-3發展放射性核種的腫瘤標靶治療。本研究以鍍-68/鎩-68發生器產出的鎩-68研製預期會特異性結合腫瘤表現galectin-3的鎩-68標幟G3-C12胜肽放射藥物。以接種MDA-MB-435S人類乳癌細胞之荷瘤SCID小鼠進行的實驗結果顯示腫瘤攝取不理想，可能與鎩-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物在小鼠血中的放射化學安定性不佳有關。

關鍵詞：Galectin-3 腫瘤標靶造影藥物，生物體分布，動物 PET 造影

Abstract

Galectin-3 is a member of the galectin (a carbohydrate binding protein) family of β -galactoside-binding animal lectins implicated in cell adhesion, tumor invasion and metastasis. Galectin-3 is overexpressed in a wide range of neoplasms, such as breast cancer and prostate cancer, and is associated with tumor growth and metastases. Given this fact, radiolabeled galectin-3-targeting molecules may be useful for the noninvasive imaging of tumors expressing galectin-3, as well as for targeted radionuclide therapy. In this study, ^{68}Ga -labeled G3-C12 peptide, which may specifically target to oncological galectin-3 expression, was characterized biologically. The results of studies on MDA-MB-435S breast tumor xenografted SCID mice revealed suboptimal uptake of ^{68}Ga -labeled G3-C12 peptide in the tumor, which may be due to poor radiochemical stability of the tracer in the mouse blood.

Key words: Galectin-3 tracer for tumor imaging, biodistribution, animal PET imaging

壹、計畫緣起與目的

腫瘤由原位轉移到遠端器官是癌病的一項重要特徵 [1]，開始轉移的過程中，腫瘤細胞與內皮細胞之間表面附著為重要步驟 [2,3]，必須藉助能與碳水化合物結合的半乳糖苷結合蛋白、integrins、cadherin、免疫球蛋白(immunoglobulins) 以及laminin等分子[4,5]。

Galectin-3 是一個分子量為 31 kDa 的蛋白質，屬於哺乳類-半乳糖苷結合蛋白質的家族 (galectin family) 的一員，在細胞核或是細胞質中表現，再分泌到細胞外 [6,7]。Galectin-3可以存在於細胞質、細胞表面 [8]、細胞核中 [9] 或細胞間質 [10,11]，取決於細胞種類與增生狀態。所有的半乳糖苷結合蛋白質家族成員都含有碳水化合物識別區 (carbohydrate-recognition domain; CRD)，能選擇性地與細胞表面的碳水化合物特異性結合。Galectin-3會與某些碳水化合物、細胞外間質蛋白結合，藉由促進腫瘤細胞的附著、侵入 [12]、對抗腫瘤細胞凋亡 [13,14]、誘導內皮組織與血管增生等機制 [15]，加速腫瘤細胞的轉移。

已知Galectin-3會過度表現在一些腫瘤組織，例如乳癌 [16,17] 與攝護腺癌 [18]，Galectin-3的表現與許多腫瘤細胞在人體內的變化與轉移相互關聯 [19]，而且在轉移的腫瘤Galectin-3的表現程度高於原發性腫瘤 [20,21]。

TFA (Thomsen-Friedenreich antigen；一種細胞表面 Gal β 1-3GalNAc 雙醣抗原) 已被證實會出現在高達90%的腺癌細胞 (adenocarcinomas)[22]。在許多能與Galectin-3結合的碳水化合物當中，TFA最為重要。Galectin-3與腫瘤細胞表面的TFA結合會促使內皮細胞表面的其他Galectin-3聚集到腫瘤與內皮細胞的接觸面 [23]，所以Galectin-3與TFA的結合很可能在腫瘤細胞血管內轉移初期扮演關鍵角色。因此，阻止Galectin-3與TFA的結合自然成為抗癌藥物發展的一個方向。

大部分的Galectin-3-TFA結合抑制劑都包含能與Galectin CRD (碳水化合物識別區) 結合的碳水化合物結構 [24]，然而Galectin CRD普遍存在於Galectin家族，所以這一類的藥物既能結合Galectin-3，也能結合Galectin家族其他成員，對於Galectin-3的特異性不足。

美國米蘇里大學研究團隊使用Bacteriophage display技術篩選出G3-C12 (胺基酸系列為ANTPCGPYTHDCPVKR) 與G3-A9 (胺基酸系列為PQNSKIPGPTFLDPH) 兩段胜肽 [25]，利用培養的乳癌細胞實驗證實G3-C12胜肽能特異性結合Galectin-3 [25]。從抑制TFA結合的抗癌藥物觀點來看，G3-C12胜肽結合到Galectin-3 CRD的C端，從而阻斷TFA的結合。

Kumar 等人 [26] 以鈾-111 標幟 G3-C12 胜肽，成功用於人類乳癌細胞 [26]及攝護腺癌 [27] 轉植小鼠模型之 SPECT 造影，顯示放射性核種標幟 G3-C12 胜肽極有潛力發展成為檢測腫瘤轉移標靶 Galectin-3 造影藥物。

鎩-68 在核子醫學應用與 PET 造影的快速成長有密切關係。鎩-68 的物理半衰期為 68 分鐘，在 PET 造影的方便性還是優於碳-11 等短半衰期同位素 [20]。鎩-68 必須藉由鎳-68/鎩-68 發生器提供，由於鎳-68 之物理半衰期為 270 天，所以鎳-68/鎩-68 發生器的使用壽命可以長達一年或更久的時間；對於沒有迴旋加速器製造 PET 藥物的醫院而言，鎳-68/鎩-68 發生器提供另一種不需要加速器的選擇。

始自 1970 年代迄今，已有許多鎩-68 標幟藥物用於心臟、肝臟、腎臟及腫瘤抗藥基因的研究[29-38]，然而，鎩-68 標幟藥物在臨床造影應用目前仍然不普遍，顯然受限於沒有足夠及普遍性的鎳-68/鎩-68 發生器供應。由於 PET 造影的成長迅速，針對不同造影需求的 PET 放射藥物的發展，近年早已凌駕甚至超越傳統核醫 SPECT 藥物的成長。PET 藥物強勢成長趨勢也同步帶動發生器型正子放射性同位素的市場開發。南非、德國、俄羅斯等國已有鎳-68/鎩-68 發生器供應市場開發新的鎩-68 放射藥物；國內核能研

研究所也正進行銻-68/鎵-68 發生器的研發。這種趨勢的發展有利於鎵-68 放射藥物的研發與應用。

本研究目的為合成會特異性結合 Galectin-3 的 G3-C12-DOTA 耦合物，發展鎵-68 正子放射性同位素標幟胜肽類核醫藥物，並以腫瘤細胞評估其生物特性。

核能研究所為國內最具規模之核醫放射藥物研發與製造中心，以往在醫用放射性同位素生產及胜肽藥物研發製造已有成效，其中銻-111 標幟 DTPA-體抑素 (octreotide) 已獲得衛生署藥品許可證，並供應國內核子醫學檢查內分泌型惡性腫瘤病灶。本研究如能證實鎵-68 標幟 G3-C12 胜肽能與表現 Galectin-3 之乳癌細胞有特異性結合，未來可以配合核研所的醫用放射性同位素生產及胜肽藥物製造能力，進一步開發新一代的乳癌、攝護腺癌造影劑用以鑑別是否為 Galectin-3 表現的癌病灶；計劃如能成功，對於國內癌病的治療規劃與預後評估，會有重大貢獻。

貳、研究方法與過程

本研究於 100 年度已達成 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物製備、發生器取得鎳-68 之純化濃縮，以及以聚焦微波加熱進行鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽等技術目標，可以接續執行生物活性評估研究。

一、鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物

50 mCi 鎳-68/鎳-68 發生器 (南非 iThemba LABS) 以高純度 0.6 N HCl 淘洗。前 2 mL 之 0.6 N HCl 淘洗液不用，取第二次淘洗液 0.6 mL，加入含 16 μ g DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物之玻璃試管，續加入 1 mL 1.6 M HEPES 溶液，混合均勻後放入 CEM 聚焦微波以 90°C 加熱 1 分鐘，即完成標幟。將反應液移入一 Waters C18 light 小管柱，先以 5 ml 注射用水流洗移除極性不純物，再以 0.5 ml 乙醇洗出放射性鎳標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物。以無菌生理食鹽水稀釋乙醇溶液至適當濃度。

二、鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物放射化學純度分析

本研究以放射薄層色層分析法 (TLC) 分析 鎳-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物放射化學純度，以 HPLC 分析

確認TLC用於分析 鎔-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物放射化學純度得準確性。

TLC 系統以 ITLC-SG 色層分析薄片 (2×10 cm; Pall, Ann Arbor, MI, USA) 為固定相，以 0.1 N HCl 為移動相。展開後的 ITLC-SG 薄片以 Bioscan AR-2000 型放射薄層掃描儀進行圖譜分析。

HPLC 系統包括：Waters 600 pump、Waters 2997 photodiode array 偵檢器 (波長設定為 220 nm)、Bioscan B-FC-1000 Flow Count 輻射偵測器及 20- μ l loop。逆相 HPLC 分析管柱為 Phenomenex Gemini 5 μ m C18 管柱 (4.6 × 250 mm)。以等濃度 (isocratic) 含 0.1 % (v/v) 三氟醋酸之 15% 乙氰水溶液為移動相；流速設定為每分鐘 1 ml。HPLC 圖譜以 Empower 軟體進行分析。

三、鎔-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物安定性試驗

取適量鎔-68 標幟 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物加入含 0.1% BSA 之 0.01 M PBS 溶液 (pH 7.4)，以及小鼠血清溶液 (以等體積生理鹽水稀釋)，置於 37°C 水浴中，在 30 分鐘、1 小時、2 小時取樣進行放射薄層分析。

四、鎶-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物細胞結合試驗

本研究選用會過度表現Galectin-3 的MDA-MB-435S人類乳癌細胞進行鎶-67 標幟DOTA-GSG-G3-C12 胜肽之腫瘤細胞結合實驗。細胞株使用的培養液為RPMI 1640 含有 4.5 g/L 左旋葡萄糖(D-glucose)、左旋 麩醯胺酸 (L-glutamine)，及 10% 胎牛血清(FBS)，培養環境為 37°C、5% CO₂之加濕細胞培養箱。

培養於培養瓶中的人類腫瘤細胞以trypsin處理，收集的細胞以細胞結合試驗液 (含 25 mM HEPES之MEM (pH 7.4)、0.2% BSA及 3 mM 1,10-phenathroline) 清洗一次後，移入小Eppendorf 試管 (每管約含 1×10^6 個細胞)，加約入 5×10^4 cpm之鎶-68 標幟DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物及 0.3 ml結合試驗液。試管置於 37°C水浴中培養，在 30 分鐘、1 小時及 2 小時分別從試管吸出結合試驗液，細胞以冰冷之 0.01 M PBS/0.2% bovine serum albumin (pH 7.4) 洗清後離心。重複前述步驟至少三次，以移除未結合到細胞之放射活性。以加馬計數器計讀結合到細胞的放射活性。

五、接種 MDA-MB-435S 人類乳癌細胞之 荷瘤 SCID 小鼠 動物模式

取購入 4 週大的雌性嚴重免疫缺乏鼠 (SCID mouse) 飼養至 6 週大後，將 MDA-MB-435S 人類乳癌細胞皮下種植入 SCID 鼠之前肢肩部中，每一隻植入 1×10^7 個細胞，待腫瘤成長約至 7-10 mm，即可進行生物分佈實驗以及 PET 造影研究。

六、鎩-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物生物體分布實驗

接種 MDA-MB-435S 人類乳癌細胞之 荷瘤 SCID 小鼠由尾部靜脈注射約 0.3 mCi 的鎩-68 標幟 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物，分別在注射後 30 分鐘、60 分鐘及 90 分鐘犧牲 (每個時間點各 3 隻)，取其血液、心臟、肺臟、肝臟、腎臟、脾臟、胃、小腸、大腿肌肉及腫瘤組織，經生理食鹽水清洗後秤重，再利用自動加馬偵測器測量其放射性活度，所得之生物體分佈以 % ID(injected dose)/g 表示。

七、鎔-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物動物PET造影實驗

接種 MDA-MB-435S 人類乳癌細胞之荷瘤 SCID 小鼠以 0.1% isoflurane 氣體麻醉，由尾部靜脈注射約 0.3 mCi 鎔-68 標幟 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物，馬上進行PET造影，每 10 分鐘收動態影像至 90 分鐘。影像收集為 15 秒×8 張、30 秒×2 張、60 秒×2 張、300 秒 3×11 張、10 分鐘×3 張。以 ODEM2D 處理影像。

參、主要發現與結論

一、鎩-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物

本研究使用自南非 iThemba LABS 引進之鎩-68/鎩-68 發生器進行研究。為取得足夠的鎩-68 放射活度，原收集 5 mL 0.6 N HCl 淘洗液，加入高濃度 HCl 使淘洗液鎩-68 形成氯化鎩合物陰離子，再以陰離子交換樹脂吸附，以 4 N HCl 洗出不純物後，最後以少量水 (0.4 mL) 洗出濃縮的鎩-68；純化濃縮效率為 64%-72%。此方法的優點可以提高鎩-68 的核種純度及放射活性濃度，但操作者的手部會累積驚人的輻射劑量。改良的方法包括：(1) 取用放射活性濃度最高的鎩-68/鎩-68 發生器淘洗 fraction，亦即丟棄第一次淘洗的 2 mL，取用第二段 0.6 mL 淘洗液；(2) 提高標幟反應液中的 HEPES 濃度至 1 M。如此的改變使標幟效率由為 $74.3 \pm 6.2\%$ ($n = 4$) 提高到 $95.3 \pm 4.2\%$ ($n = 6$)。

二、鎩-68 標幟 DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物安定性試驗

以放射薄層分析鎩-68 標幟 DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物在 37°C 含 0.1% BSA 之 0.01 M PBS 溶液 (pH 7.4) 30 分鐘、1 小時及 2 小時的放射化學純度分別為 $94.7 \pm 4.2\%$ 、 $94.2 \pm 5.5\%$ 及 $92.8 \pm 4.5\%$ (每一時間點 $n = 3$)。同時間點的小鼠血清溶液樣品分析的放射化學純度分別為 $84.3 \pm 6.3\%$ 、 $69.7 \pm 5.1\%$ 及 $40.9 \pm 11.5\%$

(每一時間點 $n = 3$)。試驗結果顯示鎂-68 標幟

DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物在含 0.1% BSA之 0.01 M PBS 溶液中有良好的放射化學安定性。然而，鎂-68 標幟

DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物在小鼠血清溶液卻有分解的現象，與銥-111 標幟DOTA-GSG-G3-C12 胜肽耦合物類似 [26]。

三、鎂-68 標幟DOTA-(GSG)-G3-C12 胜肽耦合物細胞結合試驗

鎂-68標幟DOTA-GSG-G3-C12胜肽耦合物 (約 5×10^4 cpm) 與MDA-MB-435S人類乳癌細胞 (細胞數約 1×10^6) 在37°C水浴中培養30 分鐘、1小時及2小時之細胞結合率分別為 $0.3 \pm 0.0\%$ 、 $2.1 \pm 0.4\%$ 及 $2.4 \pm 0.3\%$ ，略低於銥-111標幟DOTA-GSG-G3-C12胜肽耦合物 (約為0.5%、5.0%及4.9%)[26]。

四、鎂-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物生物體分布實驗

鎂-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物在接種MDA-MB-435S人類乳癌細胞之荷瘤SCID小鼠的生物體分布如表一所示。放射活性分布主要在腎臟。靜脈注射鎂-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物後90分鐘之腫瘤/血液及腫瘤/肌肉比值分別為2.0及4.7。

表一、鎂-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物在接
種MDA-MB-435S人類乳癌細胞之荷瘤SCID小鼠的生物體分布
(%ID/g)

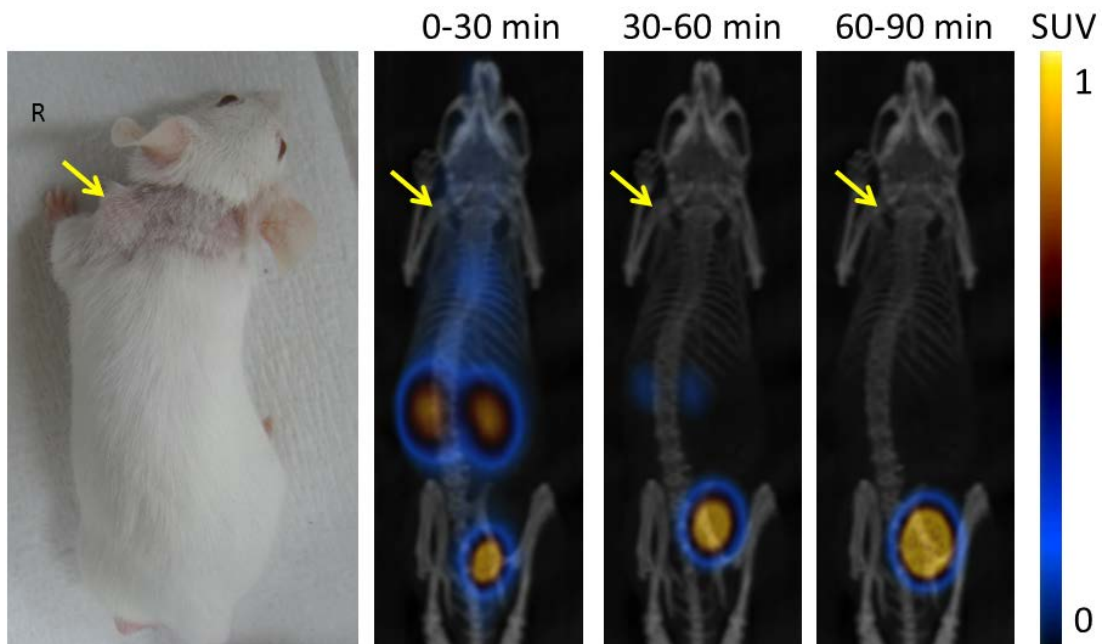
	30分鐘	60 分鐘	90分鐘
血液	1.62 ± 0.31	0.32 ± 0.12	0.07 ± 0.02
心臟	0.66 ± 0.21	0.18 ± 0.07	0.07 ± 0.03
肺臟	1.55 ± 0.32	0.47 ± 0.14	0.31 ± 0.11
肝臟	0.65 ± 0.15	0.32 ± 0.12	0.26 ± 0.06
脾臟	0.35 ± 0.11	0.19 ± 0.06	0.12 ± 0.04
胃	0.17 ± 0.09	0.10 ± 0.04	0.13 ± 0.04
腸	0.32 ± 0.10	0.29 ± 0.07	0.35 ± 0.10
腎臟	31.0 ± 6.7	18.3 ± 4.4	10.2 ± 3.4
肌肉	0.28 ± 0.15	0.08 ± 0.16	0.03 ± 0.01
腫瘤	0.41 ± 0.07	0.20 ± 0.08	0.14 ± 0.05
腫瘤/血液	0.25	0.63	2.00
腫瘤/肌肉	1.46	2.50	4.70

*每一時間點 n = 3

五、鎶-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物動物PET造影

接種MDA-MB-435S人類乳癌細胞之荷瘤SCID小鼠由尾靜脈注射鎶-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物後之PET造影結果如圖一所示。

放射活性主要由腎臟排至膀胱。其他器官的放射活性分布不明顯。PET影像未明顯顯示腫瘤。



圖一、接種MDA-MB-435S人類乳癌細胞之荷瘤SCID小鼠注射鎶-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物後之PET造影。箭頭所指為接種腫瘤位置。

結論：

本研究結果顯示鎩-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物在接種MDA-MB-435S人類乳癌細胞之荷瘤SCID小鼠的腫瘤攝取不理想，可能與鎩-68標幟DOTA-(GSG)-G3-C12胜肽耦合物在小鼠血中的放射化學安定性不佳有關。

肆、參考文獻

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2007;57:43-66.
2. Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA. Tumor cell interactions with the extracellular matrix during invasion and metastasis. *Ann Rev Cell Biol* 1993;9:541-73.
3. Liotta LA. Cancer cell invasion and metastasis. *Sci Am* 1992;266:54-63.
4. Inohara H, Raz A. Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion. *Cancer Res* 1995;55:3267-3271.
5. Bussemakers MJ, Schalken JA. The role of cell adhesion molecules and proteases in tumor invasion and metastasis. *World J Urol* 1996;14:151-156.
6. Barondes SH, Cooper DN, Gitt MA, Leffler H. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994;269:20807-20810.
7. Raz A, Lotan R. Endogenous galactoside-binding lectins: a new class of functional tumor cell surface molecules related to metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1987;6:433-452.
8. Sato S, Hughes RCJ. Regulation of secretion and surface expression

- of Mac-2, a galactoside binding protein of macrophages. *J Biol Chem* 1994;269:4424-4430.
9. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6452-6456.
 10. Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med* 1998;76:402-412.
 11. Sato S, Burdett I, Hughes RC. Secretion of the baby hamster kidney 30-kDA galactose binding lectin from polarized and nonpolarized cells: a pathway independent of the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Exp Cell Res* 1993;207:8-18.
 12. Inohara H, Raz A. Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion. *Cancer Res* 1995;55:3267-3271.
 13. Matarrese P, Fusco O, Tinari N, et al. Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties. *Int J Cancer* 2000;85:545-554.
 14. Fukumori T, Oka N, Takenaka Y, et al. Galectin-3 regulates mitochondrial stability and antiapoptotic function in response to

- anticancer drug in prostate cancer. *Cancer Res* 2006;66:3114-3119.
15. Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, et al. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol* 2000;156:899-909.
 16. Ochieng J, Warfield P, Green-Jarvis B, Fentie I. Galectin-3 regulates the adhesive interaction between breast carcinoma cells and elastin. *J Cell Biochem* 1999;75:505-514.
 17. Idikio H. Galectin-3 expression in human breast carcinoma: correlation with cancer histologic grade. *Int J Oncol* 1998;12:1287-1290.
 18. Wang I, Inohara H, Pienta KJ, Raz A. Galectin-3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;217:292-303.
 19. Takenaka Y, Fukumori T, Raz A. Galectin-3 and metastasis. *Glycoconj J* 2004;19:543-549.
 20. Raz A, Lotan R. Lectin-like activities associated with human and murine neoplastic cells. *Cancer Res* 1981;41:3642-3647.
 21. Raz A, Zhu D, Hogan V, Shan N, Raz T, Karkash R, et al. Evidence for the role of 34-kDa galactoside-binding lectin in transformation and metastasis. *Int J Cancer* 1990;46:871-877.

22. Springer GF. T and Tn, general carcinoma autoantigens. *Science* 1984;224:1198-1206.
23. Glinsky VV, Glinsky GV, Rittenhouse-Olson K, et al. The role of Thomsen-Friedenreich antigen in adhesion of human breast and prostate cancer cells to the endothelium. *Cancer Res* 2001;61:4851-4857.
24. Nangia-Makker P, Hogan V, Honjo Y, et al. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1854-1862.
25. Zou J, Glinsky VV, Landon L, Matthews L, Deutscher SL. Peptides specific to the galectin-3 carbohydrate recognition domain inhibit metastasis-associated cancer cell adhesion. *Carcinogenesis* 2005;26:309-318.
26. Kumar SR, Deutscher SL. ¹¹¹In-labeled galectin-3-targeting peptide as a SPECT agent for imaging breast tumors. *J Nucl Med* 2008;49:796-803.
27. Deutscher SL, Figuero SD, Kumar SR. Tumor targeting and SPECT imaging properties of an ¹¹¹In-labeled galectin-3 binding peptide in prostate carcinoma. *Nucl Med Biol* 2009;36:137-146.
28. Breeman WAP, Verbruggen AM. The ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator has high

- potential, but when can we use ^{68}Ga -labelled tracers in clinical routine? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:978-981.
29. Wagner SJ, Welch MJ. Gallium-68 labeling of albumin and albumin microspheres. *J Nucl Med* 1979;20:428-433.
 30. Cutler CS, Giron MC, Reichert DE, et al. Evaluation of gallium-68 tris(2-mercaptobenzyl) amine: a complex with brain and myocardial uptake. *Nucl Med Biol* 1999;26:305-316.
 31. Schuster DP, Markham J, Welch MJ. Positron emission tomography measurements of pulmonary vascular permeability with Ga-68 transferrin or C-11 methylalbumin. *Crit Care Med* 1998;26:518-525.
 32. Green MA, Welch MJ, Mathias CJ, Fox KA, Knabb RM, Huffman JC. Gallium-68 1,1,1-tris (5-methoxysalicylaldehydimethyl)ethane: a potential tracer for evaluation of regional myocardial blood flow. *J Nucl Med* 1985;26:170-180.
 33. Kumar B, Miller TR, Siegel BA, et al. Positron tomographic imaging of the liver: ^{68}Ga iron hydroxide colloid. *AJR Am J Roentgenol* 1981;136:685-690.
 34. Mathias CJ, Lewis MR, Reichert DE, et al. Preparation of ^{66}Ga - and ^{68}Ga -labeled Ga(III)- deferoxamine-folate as potential folate-receptor-targeted PET radiopharmaceuticals. *Nucl Med Biol*

2003;30:725-731.

35. Welch MJ, Thakur ML, Coleman RE, Patel M, Siegel BA, Ter-Pogossian M. Gallium-68 labeled red cells and platelets: new agents for positron tomography. *J Nucl Med* 1977;18:558-562.
36. Sharma V, Prior JL, Belinsky MG, Kruh GD, Piwnica-Worms D. Characterization of a $^{67}\text{Ga}/^{68}\text{Ga}$ radiopharmaceutical for SPECT and PET of MDR1 P-glycoprotein transport activity in vivo: validation in multidrug-resistant tumors and at the blood-brain barrier. *J Nucl Med* 2005;46:354-364.
37. Sharma V, Beatty A, Wey SP, et al. Novel gallium(III) complexes transported by MDR1 Pglycoprotein: potential PET imaging agents for probing P glycoprotein-mediated transport activity in vivo. *Chem Biol* 2000;7:335-343.
38. Hsiao YM, Mathias CJ, Wey SP, Fanwick PE, Green MA. Synthesis and biodistribution of lipophilic and monocationic gallium radiopharmaceuticals derived from *N,N'*-bis(3-aminopropyl)-*N,N'*-dimethylethylenediamine: potential agents for PET myocardial imaging with ^{68}Ga . *Nucl Med Biol* 2009;36:39-45.